6 月 June
2019, 62(6): 769 - 778
昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
http://www.insect.org.cn
doi: 10.16380/j.kcxb.2019.06.012

微小 RNA 和长链非编码 RNA 介导的昼夜节律调控

王丹凤[1,2,3,4,#], 杨 广[1,2,3,4,#], 陈文锋[5,*]

(1. 福建农林大学应用生态研究所, 闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 福州 350002;
2. 福建农林大学, 教育部害虫生态防控国际合作联合实验室, 福州 350002;
3. 福建农林大学, 农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室, 福州 350002;
4. 福建农林大学, 害虫绿色防控福建省高等学校重点实验室, 福州 350002;
5. 福州大学生物科学与工程学院, 福州 350108)

摘要: 非编码 RNA(ncRNA)是生物体细胞内一类重要的调控分子,其介导的昼夜节律调控日益受到研究者的重视。本文主要以黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 和哺乳动物的相关研究为背景,阐述了微小 RNA(miRNA)和长链非编码 RNA(lncRNA)对昼夜节律的调控。miRNA 介导的昼夜节律调控包括:生物体内(尤其是钟神经元中)具有节律性表达的 miRNA;输入系统和 miRNA 存在相互调控,这主要是通过光照这个授时因子起作用;miRNA 可直接调控核心振荡器,还可以调控其他基因而间接影响到核心振荡器;miRNA 对输出系统的调控主要集中在代谢取食节律、运动节律、睡眠节律等。昼夜节律可调控 lncRNA 的表达,同时 lncRNA 也可调控昼夜节律,且 lncRNA 对基因调控范围广,作用机制复杂,这些都具有广阔的研究前景。本文将有助于进一步深入研究 ncRNA 对昼夜节律的调控。

关键词: 果蝇; 哺乳动物; 非编码 RNA; 微小 RNA; 长链非编码 RNA; 昼夜节律
中图分类号: Q965　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0454-6296(2019)06-0769-10

miRNA- and lncRNA-mediated regulation of circadian rhythms

WANG Dan-Feng[1,2,3,4,#], YANG Guang[1,2,3,4,#], CHEN Wen-Feng[5,*] (1. State Key Laboratory of Ecological Pest Control for Fujian and Taiwan Crops, Institute of Applied Ecology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Joint International Research Laboratory of Ecological Pest Control, Ministry of Education, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 3. Key Laboratory of Integrated Pest Management for Fujian-Taiwan Crops, Ministry of Agriculture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 4. Key Laboratory of Green Pest Control, Fujian Province University, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 5. College of Biological Science and Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China)

Abstract: Non-coding RNAs (ncRNAs) are a family of important regulatory molecules in organisms, and the regulation of circadian rhythms by ncRNAs has received increasing attention from researchers. In this article, we reviewed the regulation of circadian rhythms by microRNAs (miRNAs) and long-chain non-coding RNAs (lncRNAs) in the context of the related studies of *Drosophila melanogaster* and mammals. miRNA-mediated regulation of circadian rhythms includes: there are miRNAs with rhythmic expression in organisms, especially in clock neurons; the interaction between input systems and miRNAs mainly via the

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31601894); 福建省科技重大专项(2018NZ01010013); 福建省自然科学基金项目(2017J0106)
作者简介: 王丹凤, 女, 1984 年 11 月生, 福建福安人, 硕士研究生, 主要从事昆虫分子生物学研究, E-mail: adan10@foxmail.com; 杨广, 男, 1973 年 11 月生, 福建尤溪人, 教授, 主要从事昆虫生态及分子生物学研究, E-mail: yxg@fafu.edu.cn
[#]共同第一作者 Authors with equal contribution
[*]通讯作者 Corresponding author, E-mail: chenwenfeng@fzu.edu.cn
收稿日期 Received: 2019-01-03; 接受日期 Accepted: 2019-03-14

zeitgeber of light; miRNAs can directly regulate the core oscillator or indirectly affect the core oscillator by regulating other genes; and the regulation of miRNAs on the output system mainly focuses on metabolic feeding rhythms, locomotion rhythms, and sleep rhythms. The circadian rhythm and lncRNAs can regulate each other, and lncRNAs have a wide range of effects and complex mechanisms, which has broad research prospects. This article will be useful for further studies on the regulation of circadian rhythms by non-coding RNAs.

Key words: *Drosophila*; mammal; ncRNA; microRNA; lncRNA; circadian rhythm

生物节律(biological rhythm)也称生物钟(biological clock),包括年节律(annual rhythm)、季节节律(seasonal rhythm)和昼夜节律(circadian rhythm,又称近日节律)。本文主要针对昼夜节律,它是生物过程或活动规律的每日循环,包括许多激素循环、离子功能、睡眠和觉醒水平的规律控制和可预测的变化(Allada and Chung, 2010)。昼夜节律由视交叉上核控制,并且受光的影响最大,光信输入信号在视交叉上核中产生核心自主振荡器,然后通过不同输出信号控制一系列昼夜节律输出生理或行为(Partch *et al*., 2014; Takahashi, 2017)。昼夜节律系统可简单概括为环境输入、核心自主振荡器和输出系统三部分(Allada and Chung, 2010)。转录翻译反馈环(transcriptional translational feedback loop, TTFL)的分子调控模型获得了2017年诺贝尔生理学或医学奖(Ledford and Callaway, 2017)。

关于真核生物昼夜节律的内源分子钟控制,除了转录翻译反馈环调控机制在昼夜节律的输入系统、核心振荡器和输出系统中扮演着重要的角色外,非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)介导的调控也起着非常重要的作用。尤其近年来,多项研究发现微小RNA(microRNA, miRNA)和长非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)通过调节昼夜节律相关基因而在昼夜节律中起重要作用。在本文中,我们主要以黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*(以下简称果蝇)和哺乳动物的相关研究为背景,总结了miRNA和lncRNA介导的昼夜节律调控研究取得的进展。

1 miRNA 介导的昼夜节律调控

miRNA作为动植物中存在的一类最小的功能ncRNA,长度约为22个核苷酸(Jonas and Izaurralde, 2015)。一种生物通常有数百个不同的miRNA,它们通常与靶mRNA上特异的互补位点作用在转录后水平抑制基因的表达(Jonas and Izaurralde, 2015)。我们按发表时间降序梳理了现有文献,发现近十年多来,大量的研究揭示了miRNA参与昼夜节律调控,尤其是在果蝇中的研究(表1)。我们将从miRNA表达的节律变化、miRNA介导的昼夜节律输入系统调控、核心振荡器系统调控、输出系统的调控四个方面进行阐述。

表1 微小RNA(miRNA)介导的昼夜节律调控

Table 1 miRNA-mediated regulation of circadian rhythm

miRNA	物种 Species	预测或确定的靶基因 Predicted or known target genes	被调控的系统 Systems involved	功能 Functions	参考文献 References
let-7	黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	*cwo*	核心振荡器 Core oscillator	参与调控 *cwo* 转录后的表达,影响核心振荡器,参与睡眠平衡调控 Participating in the regulation of *cwo* post-transcriptional expression and affecting the core oscillator, and participating in sleep homeostasis regulation	Chen *et al*., 2014; Goodwin *et al*., 2018
miR-263b	黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	*clk*, *cwo*, *bx*	核心振荡器和输出系统 Core oscillator and output system	自身表达存在节律变化,可能在胶质细胞中参与昼夜节律的调控 Expressed in a circadian manner and may be involved in the regulation of circadian rhythms in glial cells	Yang *et al*., 2008; Nian *et al*., 2018; You *et al*., 2018

续表 1 Table 1 continued

miRNA	物种 Species	预测或确定的靶基因 Predicted or known target genes	被调控的系统 Systems involved	功能 Functions	参考文献 References
miR-210	黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	*mnd*, *SoxN*, *Bsg*, *scrib*	输出系统 Output system	调节神经元发育、GTP 酶信号转导和光感受相关的途径的基因 Regulating genes involved in neuronal development, GTPase signal transduction and photoreceptor-related pathways	Cusumano *et al.*, 2018
miR-274	黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	*CG4328*, *MESK2*	输出系统 Output system	在胶质细胞中调节 *CG4328* 和 *MESK2* 的表达，影响昼夜节律 Regulating the expression of *CG4328* and *MESK2* in glial cells, and affecting circadian rhythms	You *et al.*, 2018
miR-455	人类 *Homo sapiens*	*Clk*, *Per2*, *Cry2*, *RORα*	核心振荡器 Core oscillator	在软骨肉瘤细胞中 miR-455 表达受昼夜节律调控，它自身直接调节多个参与昼夜节律的基因 The expression of miR-455 in chondrosarcoma cells is regulated by circadian rhythm, and miR-455 directly regulates multiple genes involved in circadian rhythm	Swingler *et al.*, 2018
miR-132	小鼠 *Mus musculus*	*Mecp2*, *Ep300*, *Jarid1*, *Btg2*, *Paip2a*	输入系统 Input system	作为 CREB 的靶标，参与染色质重塑，调节钟基因的表达和光诱导重置昼夜节律的过程 As a target of CREB, it is involved in chromatin remodeling, regulation of the expression of some clock genes and photo-induced process of circadian rhythm resetting	Cheng *et al.*, 2007; Mendoza-Viveros *et al.*, 2017
miR-21	人类 *Homo sapiens*	*PTEN*, *PDCD4*, *FASL*, *TGFBR3*, *SPRY1*, *PFK*	输出系统 Output system	作为 PER2 和 HIF1A 的直接靶标，介导 PER2 在急性心肌梗塞中的心脏保护作用 As a direct target of PER2 and HIF1A, it mediates the cardioprotective effects of PER2 in acute myocardial infarction	Bartman *et al.*, 2017; Oyama *et al.*, 2017
miR-92a	黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	*sirt2*	输出系统 Output system	以自身节律表达变化的方式调控 *sirt2* 水平来调节钟神经元兴奋性 Regulating clock neuron excitability by regulation of *sirt2* levels in a rhythm expression manner	Chen and Rosbash, 2017
miR-211	人类 *Homo sapiens*	*Bmal1*, *Clk*	核心振荡器 Core oscillator	作为 UPR/PERK 信号诱导的 miRNA，通过调控 Bmal1 和 Clock 对接 UPR 和昼夜节律调控肿瘤的生存 As a UPR/PERK signaling induced miRNA, it regulates tumor survival by regulating Bmal1 and Clock that connect with UPR and circadian rhythm	Bu *et al.*, 2018
miR-192/194	人类 *Homo sapiens*，小鼠 *Mus musculus*	*Per1*, *Per2*, *Per3*	核心振荡器 Core oscillator	调节 *Per* 的转录后表达 Regulating *Per* post-transcriptional expression	Nagel *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2016
miR-276a	黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	*tim*	核心振荡器 Core oscillator	调节 *tim* 的转录后表达 Regulating *tim* post-transcriptional expression	Chen and Rosbash, 2016

续表 1 Table 1 continued

miRNA	物种 Species	预测或确定的靶基因 Predicted or known target genes	被调控的系统 Systems involved	功能 Functions	参考文献 References
miR-124	黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	*sax*, *Mad*, *wit*, *tkv*, *medea*	输出系统 Output system	可能调节 BMP 通路 It is possible to regulate the BMP pathway	Garaulet *et al*., 2016; Zhang *et al*., 2016
miR-29a/b/c	人类 *Homo sapiens*	*Per*1	核心振荡器 Core oscillator	调节 *Per1* 的转录后表达 Regulating *Per*1 post-transcriptional expression	Zhao *et al*., 2014
miR-132, let-7b, miR-125a	大鼠 *Rattus norvegicus*	未知 Unknown	输出系统 Output system	睡眠剥夺后在大脑中表达发生明显变化,可能参与调控睡眠/觉醒节律 Significant changes in the brain after sleep deprivation and may be involved in the regulation of sleep/wake rhythms	Davis *et al*., 2007, 2011, 2012
miR-279	黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	*upd*	输出系统 Output system	通过调节 *upd* 影响 JAK/STAT 信号通路活性 Affecting JAK/STAT pathway activity by regulating *upd*	Luo and Sehgal, 2012
miR-959 – 964	黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	未知 Unknown	输出系统 Output system	本身存在节律表达变化,在外周组织中参与天然免疫、代谢、取食等昼夜节律相关的调节 Expressed in a circadian manner and participating in the regulation of circadian rhythms such as natural immunity, metabolism, and feeding in peripheral tissues	Vodala *et al*., 2012
miR-142-3p, miR-494, miR-152	小鼠 *Mus musculus*	*Bmal*1	核心振荡器 Core oscillator	在外周中调节 *Bmal*1 的转录后表达 Regulating *Bmal*1 post-transcriptional expression in peripheral tissues	Shende *et al*., 2011
miR-29b	人类 *Homo sapiens*	*ID*3	核心振荡器 Core oscillator	通过调节 *ID*3 影响 CLOCK 和 BMAL1 的互作 Influencing the interaction of CLOCK and BMAL1 by adjusting *ID*3	Sarachana *et al*., 2010
miR-122	小鼠 *Mus musculus*	*Pparβ/δ*, *Smarcd*1/*Baf60a*, *nocturnin*	输出系统 Output system	调节参与肝脏脂肪代谢的各种节律代谢调节因子 Regulating various rhythmic metabolic regulators that are involved in liver fat metabolism	Gatfield *et al*., 2009; Kojima *et al*., 2010
bantam	黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	*clk*	核心振荡器 Core oscillator	调节 *clk* 基因,影响运动节律周期 Regulating *clk* gene and affecting the locomotor rhythm period	Kadener *et al*., 2009
miR-282	黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	*jet*	输入系统 Input system	可能靶向对 CRY 信号和 TIM 降解起重要作用的基因 *jet* It's possible to target a gene *jet* that plays an important role in CRY signaling and TIM degradation	Dubruille *et al*., 2009
miR-26a	鸡 *Callus gallus*	*L-VGCCα1C*	输入系统 Input system	负调控细胞膜视锥受体基因 *L-VGCCα1C* 的表达 Negative regulation of the expression of cell membrane cone receptor gene *L-VGCCα1C*	Shi *et al*., 2009
miR-263a	黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	*clk*, *dbt*, *ck1ε*, *twins*	核心振荡器 Core oscillator	受昼夜节律调控自身存在节律变化,可能参与协调转录和转录后通路微调 Regulated by the circadian rhythm, and may participate in the coordination of transcription and post-transcriptional pathway fine-tuning	Yang *et al*., 2008

续表 1 Table 1 continued

miRNA	物种 Species	预测或确定的靶基因 Predicted or known target genes	被调控的系统 Systems involved	功能 Functions	参考文献 References
miR-219	小鼠 *Mus musculus*	*CaMKIIγ*	输入系统 Input system	通过下调 *CaMKIIγ* 负调控 NMDA 受体功能，影响日周期长短和速度 Negative regulation of NMDA receptor by down-regulation of *CaMKIIγ*, and affecting daily period length and speed	Cheng *et al*., 2007
miR-96, miR-182, miR-183	小鼠 *Mus musculus*	*ADCY6*	输入系统 Input system	在视网膜内调节靶基因 *ADCY6* Regulating the target gene *ADCY6* in the retina	Xu *et al*., 2007

1.1　miRNA 表达的节律性

为理解 miRNA 在昼夜节律调控中的作用,不少研究从核心振荡器重要的钟基因入手,检测一天中多个时间点的 miRNA 表达,以期发现节律表达的 miRNA。在小鼠中,通过基因芯片的方法,Xu 等(2007)发现了 12 个 miRNA 在小鼠视网膜中特异性表达,并且表现出节律性;为了寻找钟蛋白 CLOCK (CLK)能否通过 E-box 序列元件直接调控 miRNA 表达的节律变化,Cheng 等(2007)通过 CLK 蛋白进行染色质共沉淀的方法筛选相应的 miRNA,结果发现小鼠中 miR-219-1 能够直接受到 CLK 的调控,并且体内过表达 CLK 及其转录共激活因子 BMAL1 能够提高 miR-219-1 的表达;在其他一些非中枢组织中也发现昼夜节律系统调控 miRNA,比如作为 PER2 和 HIF1A 的直接靶标,miR-21 的节律变化介导 PER2 在急性心肌梗塞中的心脏保护作用(Bartman *et al*., 2017; Oyama *et al*., 2017)。

在果蝇中,通过基因芯片的方法 Yang 等(2008)研究了钟基因 *cycle*(*cyc*)突变体和野生型果蝇的 78 种 miRNA 的昼夜变化量,结果显示这些 miRNA 中只有 miR-263a 和 miR-263b 显示出明显的昼夜变化;该研究还发现 miR-133, miR-124, miR-184, miR-210, miR-276b 和 miR-31a 等 miRNA 的表达水平在 *cyc* 突变体果蝇中和野生型相比存在显著的差异(Yang *et al*., 2008);Michael Rosbash 实验室通过深度测序的方法检测了果蝇头部一天 6 个不同时间点 miRNA 的节律变化,结果发现果蝇头部只有少部分 miRNA 的表达具有节律性(Vodala *et al*., 2012)。果蝇和小鼠中的研究揭示了只有少数的 miRNA 存在节律表达的变化,但是这些研究都是用群体细胞去检测,有些 miRNA 可能在单细胞水平存在节律表达变化。Michael Rosbash 实验室把果蝇的钟神经元分离出来检测发现存在节律变化的 miRNA 数量比直接头部检测的要多,发现 miR-184, miR-276a, miR-999, miR-981, miR-210 和 miR-92a 等 miRNA 在钟神经元中存在明显节律表达变化(Chen and Rosbash, 2017)。由此可见,生物体内存在着一些具有节律变化的 miRNA,特别是在钟神经元中。

1.2　miRNA 介导的昼夜节律输入系统调控

昼夜节律输入系统的信号对 miRNA 存在调控(表 1)。在小鼠中,Cheng 等(2007)发现 miR-132 是 cAMP 反应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB)的靶标,而 CREB 是小鼠昼夜节律输入系统中与光介导具有紧密联系的因子。miR-132 5′启动子区域存在两个保守的 cAMP 反应元件序列,同时发现 miR-132 的表达确实受到光信号的影响。miR-132 的表达需要细胞外信号调节的激酶/有丝分裂原激活的蛋白激酶(extracellular signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase, ERK/MAPK)途径信号的激活,表明 miR-132 在小鼠昼夜节律输入系统中起着重要作用。最近一项研究分析了 miRNA 在长短光周期中的表达,鉴定到了多个差异表达的 miRNA(mir-2b, mir-11, mir-34, mir-274, mir-184 和 mir-285)(Pegoraro and Tauber, 2018),但是这些 miRNA 直接还是间接受到光输入的调控还是未知的。

反过来,miRNA 也影响着昼夜节律输入系统(表 1)。最近研究还揭示 miR-132/212 通过调节 *MeCP*2 的表达而影响下游脑源神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)和哺乳动物雷帕霉素靶标(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号传导,在小鼠中调控对不同光周期的适应(Mendoza-Viveros *et al*., 2017)。前面我们提到的 miR-96, miR-182 和 miR-183 这组同源的 miRNA 在小鼠视网膜内调节 *Adenylyl cyclase* 6(*ADCY*6)基因

(调控与节律相关的褪黑素合成)表达而可能影响输入系统功能(Xu *et al.*, 2007)。Shi 等(2009)研究发现,鸡的视锥感受器里的 L-型电压门控钙离子通道基因(*L-VGCCs*)的表达受 miR-26a 的负调控而影响昼夜节律输入系统中的视觉功能。在果蝇中,Patrick Emery 实验室研究发现 miR-282 可能在果蝇昼夜节律输入系统中起作用,钟神经元中过表达 miR-282 的果蝇在全光照 LL 条件下节律不会紊乱,并且过表达 miR-282 影响果蝇对光刺激的反应,生物信息学分析发现 miR-282 可能靶向对隐花色素蛋白(cryptochrome, CRY)信号和 TIM 降解起重要作用的基因 *jet* (Dubruille *et al.*, 2009)。Pegoraro 和 Tauber(2018)的研究中发现 mir-2b, mir-184 和 mir-274 在钟神经元中表达很大程度上破坏了正常的光周期反应,表明这些 miRNA 在光周期定时中调控某些输入系统相关基因而起着重要作用。关于 miRNA 在昼夜节律输入系统中的调控作用主要集中在光照这个授时因子,对于温度等其他环境授时因子的相关研究还没有。昼夜节律是在多种环境授时因子的作用下被调节从而精确地适应环境中的周期性变化,相信 miRNA 在这种精确调控的分子机制中起着重要的作用。

1.3 miRNA 介导的昼夜节律核心振荡器调控

在哺乳动物的研究中,已经发现多个 miRNA 参与核心振荡器的调控(表 1)。哺乳动物核心振荡器涉及的主要钟基因包括 *Period* (*Per*1 和 *Per*2), *Cryptochrome*(*Cry*1 和 *Cry*2), *Clock*(*Clk*), *Bmal*1 和 *REV-ERBα* 等。Shende 等(2011)检测了 3 个被预测能识别 *Bmal*1 基因的 3′非编码区(3′UTR)的 miRNA 表达模式,发现 miR-494 和 miR-152 表现出明显的节律变化,而 miR-142-3p 没有明显节律变化,而体外实验证明只有 miR-494 和 miR-142-3p 能抑制 *Bmal*1 的表达。在哺乳动物中,钟基因 *Per* 也被发现受到多个 miRNA 的调控。在人源 A549 细胞中发现 miR-29abc 这个家族的 miRNA 还能直接识别 *Per*1 的 3′UTR 对其进行转录后调控(Zhao *et al.*, 2014)。Yoo 等(2017)发现 miR-24 直接靶向 *Per*2 的 3′UTR 对其进行调控而影响核心振荡器系统。Nagel 等(2009)在 HeLa 细胞中通过 *GFP* 3′UTR 报告质粒与 miRNA 表达文库共表达,结果发现 miR-192 和 miR-194 对核心钟基因 *Per* 的表达具有调控作用。并且有研究显示:*Per*1 的表达与 miR-192 和 miR-194 的这种负相关,与Ⅱ期结直肠癌患者的存活率有关,这提示了 miRNA 调控的昼夜节律在结直肠癌中起着重要的作用(Wu *et al.*, 2016)。最近一项发表在《Nature Cell Biology》杂志上的研究发现作为未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR) PERK 信号诱导的 miRNA,miR-211 通过调控 *Bmal*1 和 *Clk* 对接 UPR 和昼夜节律调控肿瘤的生存能力,说明 miRNA 介导的昼夜节律调控在肿瘤生物学中扮演重要的角色(Bu *et al.*, 2018)。Lee 等(2013)的研究发现 miR-185 在小鼠中通过结合在 *Cry*1 的 3′UTR 区,参与调控 *Cry*1 的转录后表达。另外一个重要的核心钟基因 *Clk* 的表达也受到 miRNA 的直接调控。在小鼠中发现 miR-17-5p 本身表达直接受到 CLK 蛋白转录调控,反过来 miR-17-5p 能直接靶向 *Clk* 的 3′UTR 对其进行转录后调控(Gao *et al.*, 2016)。在人类软骨肉瘤细胞中发现 miR-455 表达受昼夜节律调控,它自身直接调节 *Clk*, *Per*2 和 *Cry*2 等参与核心振荡器的基因的表达(Swingler *et al.*, 2018)。

miRNA 还可能调控其他基因而间接影响核心振荡器的功能(表 1)。有研究显示,小鼠 miR-29b 通过靶向 ID3 调控 CLOCK 和 BMAL1 的互作,从而可能影响自闭症患者的病理过程,这表明 miRNA 可以调控中枢昼夜节律影响神经系统功能(Sarachana *et al.*, 2010)。另外一项在小鼠颅骨中的研究发现 miR-433 呈现节律变化,通过靶向 *Igf*1, *Hif1α* 和 *Runx*2 等基因间接参与昼夜节律的调控,影响 *Per*2 和 *Bmal*1 等核心钟基因的节律振荡(Smith *et al.*, 2016)。Cheng 等(2007)的研究发现在中枢神经 SCN 中过表达 miR-219 会抑制细胞钙流门控,引起小鼠昼夜节律周期的延长。

在果蝇的研究中,Michael Rosbash 实验室通过 RNA 诱导的干扰复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)中的核心蛋白 AGO1 对果蝇头部 6 个不同时间点样品进行免疫共沉淀,结果找出了果蝇昼夜节律核心振荡器中最可能受到 miRNA 调控的钟基因,包括 *clk*, *vrille*(*vri*), *cwo* 和 *timeless*(*tim*)等,同时找出了 27 个在钟神经元中表达的 miRNA (Kadener *et al.*, 2009)。最后发现 bantam 能直接识别调控核心钟基因 *clk*,调控果蝇的昼夜钟周期(Kadener *et al.*, 2009)。在这 27 个钟神经元表达的 miRNA 中,我们研究发现 let-7 通过靶向核心钟基因 *cwo* 参与核心振荡器系统的调控(Chen *et al.*, 2014)。另外,这 27 个钟神经元表达的 miRNA 中,Michael Rosbash 实验室还发现 miR-276a 通过抑制核心时钟基因 *tim* 而调节分子和行为节律(Chen

and Rosbash, 2016）。所以,哺乳动物和果蝇的研究都显示核心振荡器中的基因受到大量的 miRNA 调控,miRNA 在昼夜节律核心振荡器系统调控中起着重要的作用。

1.4　miRNA 介导的昼夜节律输出系统调控

1.4.1　代谢和取食节律:除了研究 miRNA 在核心振荡器和输入系统的调控外,最近更多的研究集中在 miRNA 介导的昼夜节律输出系统的调控（表 1）。关于代谢和取食节律,在小鼠的研究主要集中在肝脏方面,Gatfield 等（2009）发现 miR-122 前体表达在肝脏中具有节律性,干扰 miR-122 会引起上百个 mRNA 表达的提高或降低,上调表达的 mRNA 中超过 50% 存在潜在的 miR-122 识别位点。这些受 miR-122 影响的 mRNA 多数具有表达节律性,进一步研究发现 miR-122 通过调控一系列基因参与肝脏中胆固醇和脂肪的代谢（Gatfield *et al*., 2009）。肝脏中具有节律表达变化的重要腺嘌呤酶编码基因 *nocturnin* 直接受到 miR-122 的调控,参与脂质代谢（Kojima *et al*., 2010）。在肝脏这种外周组织中,miR-181d 和 miR-191 还可能通过调节重要钟基因 *Clk*, *Tim*, *Per*2 和 *Bmal*1 等参与调节肝脏的昼夜节律的基因表达（Na *et al*., 2009）。

在果蝇中也有相关研究,Michael Rosbash 实验室通过高通量测序的方法检测到果蝇头部中 miR-959 – 964 的表达具有非常明显的节律性,并且这种节律性受到核心钟基因的调控（Vodala *et al*., 2012）。进一步研究发现,这组 miRNA 在外周组织中参与调控果蝇的先天免疫、代谢和取食等输出行为（Vodala *et al*., 2012）。昼夜节律周期的破坏与代谢失衡密切相关,从代谢物到转录因子,昼夜节律以多种方式与代谢相互作用,我们在此例举的研究更多的是 miRNA 直接在外周组织中参与代谢的昼夜节律调控,但是不能排除 miRNA 在其他昼夜节律系统中作用而间接调控影响代谢,维持整个生命体的代谢稳态。

1.4.2　运动节律:关于运动节律的研究主要集中在果蝇上,Amita Sehgal 实验室于 2012 年第一个鉴定了参与果蝇昼夜节律输出调控系统的 miRNA（miR-279）（Luo and Sehgal, 2012）。在钟神经元中过表达 miR-279 会引起果蝇运动节律紊乱,miR-279 突变也引起类似的表型,但是不影响核心振荡器中 PER 和色素驱散因子（pigment dispersing factor, PDF）的表达,表明 miR-279 可能作用于核心振荡器下游（Luo and Sehgal, 2012）。进一步研究发现,miR-279 通过靶向转录的 Janus 激酶/信号的传感器和激活器（Janus kinase/signal transducers and activators of transcription, JAK/STAT）信号通路中的 *upd* 基因而调控果蝇昼夜节律输出（Luo and Sehgal, 2012）。2016 年,另外两项研究同时发现 miR-124 突变体果蝇在正常的光/暗循环条件下和恒定的黑暗条件下都表现出强烈的活动异常;并且 miR-124 突变不影响核心振荡器的分子的振荡,表明其可能参与调节昼夜节律输出（Garaulet *et al*., 2016; Zhang *et al*., 2016）。miR-124 可能通过调节骨形态发生蛋白（bone morphogenetic protein, BMP）信号传导相关分子参与昼夜节律输出调控（Garaulet *et al*., 2016）。

2017 年,Michael Rosbash 实验室在果蝇中发现至少 6 个 miRNA 在 PDF 阳性的核心钟神经元中呈现明显节律变化;进一步研究显示, miR-92a 在核心钟神经元中通过靶向 *sirt*2 调控 PDF 神经元兴奋性,影响对光刺激的响应（Chen and Rosbash, 2017）。Cusumano 等（2018）研究了果蝇 miR-210 在昼夜节律行为中的功能发现在明暗条件和恒定黑暗条件下,操纵 PDF 神经元中的 miR-210 表达水平会影响运动节律的相位。miR-210 不影响核心钟蛋白 PER 的周期性表达,而是调控 PDF 神经元树突形态的改变,在昼夜节律输出和指导/重塑 PDF 阳性神经元树状结构中起作用（Cusumano *et al*., 2018）。胶质细胞作为重要的外周组织,是介导昼夜节律输出的重要部位。You 等（2018）使用表达 miRNA 海绵体（一种 miRNA 特异性抑制体）的果蝇库进行高通量的遗传学筛选,以鉴定在重要输出组织胶质细胞中介导昼夜节律调控的 miRNA,发现了 20 个调节运动节律行为的神经胶质细胞 miRNA。他们进一步研究了 miR-263b 和 miR-274,发现都在成体星形胶质细胞中调节行为节律,对核心钟神经元细胞活力没有影响。我们最新的研究结果发现 miR-263b 通过抑制 *beadex*（*bx*）控制小腹侧神经元（sLNv）的突触可塑性参与运动节律调控（Nian *et al*., 2018）。

1.4.3　睡眠节律:动物的睡眠具有明显的节律变化。Davis 等（2007）研究发现剥夺睡眠的大鼠脑部 miRNA 表达水平会发生明显变化,如 miR-132, let-7b 和 miR-125a 等。侧脑室注射这些 miRNA 的特异性抑制剂在不同程度上都影响了睡眠,说明它们确实在睡眠调控中起着重要作用（Davis *et al*., 2011, 2012）。

果蝇中关于 miRNA 调控睡眠节律的研究比哺乳动物更深入。Michael Rosbash 实验室在果蝇中研

究 miR-92a 功能时也发现其影响睡眠,在多巴胺神经元中过度表达 miR-92a 可能会降低其兴奋性,从而增加睡眠(Chen and Rosbash, 2017)。相反,miR-92a 功能抑制导致睡眠持续时间减少,并且这种对睡眠的调控与核心钟神经系统存在紧密联系(Chen and Rosbash, 2017)。Goodwin 等(2018)也使用表达 miRNA 海绵体的果蝇库进行遗传学筛选,鉴定得到 25 个可能参与调节果蝇睡眠的 miRNA,其中 17 个参与促进睡眠,8 个参与促进唤醒。他们发现的 miRNA 中就有 miR-92a, miR-263a/b 和 let-7 等这些我们前面提到的在不同层面参与昼夜节律的调控的 miRNA,该研究为理解 miRNA 在睡眠中的作用奠定了很好的基础。在 miRNA 介导的昼夜节律输出系统调控部分,我们根据已发表的成果分成了代谢和取食,运动以及睡眠三方面进行阐述,但是昼夜节律输出系统涉及多方面,比如学习记忆、化学感应、求偶交配、免疫等,所以 miRNA 介导的昼夜节律输出系统的调控具有广泛的研究前景。

2 lncRNA 与昼夜节律的相互调控

lncRNA 通常是超过 200 个核苷酸的转录物,它们不会被翻译成蛋白质(Quinn and Chang, 2016)。lncRNA 是基因表达的重要调节因子,可以通过一系列不同的机制进行基因抑制和基因激活,使我们对基因组调控的理解增加了一层复杂性(Quinn and Chang, 2016)。近年来,已发现 lncRNA 也参与到昼夜节律的调节中。

2.1 昼夜节律对 lncRNA 的调控

松果体作为晚间褪黑素产生的重要部位参与昼夜节律调控,Coon 等(2012)研究发现大鼠松果体中有 112 个 lncRNA 表现出白天/夜晚表达差异,大约有一半 lncRNA 表现出夜晚增加。对每天 2 ~ 100 倍节律变化的 8 个 lncRNA 研究表明,在大多数情况下,它们的节律变化是由视交叉核中央昼夜节律振荡器的神经刺激引起的(Coon *et al*., 2012),这些 lncRNA 的表达受到通过 cAMP 起作用的去甲肾上腺素的调节,这个研究对 lncRNA 参与到昼夜节律活动调节这一假说提供了有力支持。中国科学院神经科学研究所严军研究组系统探索了小鼠肝脏中周期性表达的 lncRNA,发现很大比例昼夜节律表达的 lncRNA 位于增强子区域,被两个关键的昼夜转录因子 BMAL1 和 REV-ERBα 结合,这些节律表达的 lncRNAs 与其临近基因显示出相似的昼夜节律变化(Fan *et al*., 2017)。除了肝脏之外,他们还在其他组织中观察到增强子和昼夜节律变化的 lncRNA 之间的关联,小鼠和大鼠昼夜肝脏转录组之间的比较分析显示,尽管 lncRNA 的序列保守性低,但 lncRNA 的昼夜节律转录仍然是保守的(Fan *et al*., 2017)。

2.2 lncRNA 介导的昼夜节律调控

在前面介绍的严军研究组的工作中,他们找到一个候选节律 lncRNA,命名为 lnc-Crot,通过环形染色质构象捕捉技术发现 lnc-Crot 所在的超级增强子区域与染色质上许多基因有长程相互作用,而这些基因许多都参与代谢过程,且节律峰点富集在与 lnc-Crot 峰点接近的时间,表明这些相互作用在基因功能和节律表达上的作用(Fan *et al*., 2017)。进一步在细胞系中的实验中发现 lnc-Crot 的增强子介导了结合在其上的转录因子 REV-ERBα 的调控功能(Fan *et al*., 2017)。该研究以组学的手段对节律 lncRNA 进行了系统性地分析,揭示了节律 lncRNA 标记了一类活跃的增强子,这些增强子通过长程相互作用调控基因的表达,这种长程相互作用相对稳定,但通过结合在其上的节律转录因子实现对基因的节律调控,这些节律 lncRNA 的注释也为进一步探索它们在节律中的功能打下了基础(Fan *et al*., 2017)。Cui 等(2015)以肝细胞癌为对象,对肝癌中高度上调的 lncRNA(lncRNA highly up-regulated in liver cancer, lncRNA HULC)在肝癌中的作用机制进行了研究,发现 lncRNA HULC 通过上调肝癌细胞中的昼夜节律振荡器 CLK 引起昼夜节律的扰动,从而促进肝癌发生。此研究为理解 lncRNA 通过扰乱肝癌细胞的昼夜节律加速肝癌发生的机制提供了新的见解(Cui *et al*., 2015)。另外,也有研究表明 lncRNA 参与睡眠调控。在正常昼夜节律的情况下,lncRNA yar 的丧失会改变果蝇睡眠结构,夜间睡眠出现减少并且碎片化,*yar* 突变体在睡眠剥夺后表现出睡眠反弹减少,这些数据为 lncRNA 参与睡眠调控提供了第一个例子(Soshnev *et al*., 2011)。

3 小结与展望

从表 1 的总结我们可以发现,尽管 miRNA 参与昼夜节律调控的研究已经很多,但是 miRNA 作用机制比较单一,大部分是对目的基因进行转录后调控,未来研究可以把更多的精力放在输入系统和输出系统部分,尤其是输出系统,可以涉及多方面的生理或行为,从而拓展 miRNA 参与昼夜节律调控研究的深

度。另外，生物节律包括季节节律和日节律，我们前面讨论的大部分属于日节律。季节节律如休眠、迁飞和繁殖等随季节光周期和温度的变化而稳定发生，未来研究 miRNA 参与季节节律的调控可以拓展研究的广度。

与 miRNA 相比，lncRNA 介导的昼夜节律调控研究还处于起步阶段。近年来，lncRNA 相关研究在国内外的热度居高不下，早在 1991 年，lncRNA Xist 调控 X 染色体的失活登上《Nature》杂志（Brown *et al.*, 1991），但当时认为这只是一种特殊情况。2007 年 Howard Chang 实验室在《Cell》上发表的文章正式开启了 lncRNA 火热的 10 年（Rinn *et al.*, 2007），未来关于 lncRNA 介导的昼夜节律研究具有广阔的前景。lncRNA 作用范围广泛，作用机制更复杂，比如前面我们提到的染色质重塑，还有 RNA 的加工过程、甚至直接调控蛋白功能等（Quinn and Chang, 2016）。

人类 DNA 元件百科全书计划发现，大约 80% 的 DNA 都能转录成 RNA，其中 ncRNA 占细胞总 RNA 的绝大部分，种类也很多（The ENCODE Project Consortium, 2012）。除了我们总结的 miRNA 和 lncRNA，其他 ncRNA，如 piRNA，snoRNA，snRNA，exRNA，scaRNA 和 circRNA 等是否在昼夜节律调控系统中扮演重要角色有待深入探讨。ncRNA 与疾病的发生、发展、诊断和治疗有密切的关系，ncRNA 介导的昼夜节律调控在疾病中所起的作用还将是未来热门的前沿研究领域之一。

参考文献（References）

Allada R, Chung BY, 2010. Circadian organization of behavior and physiology in *Drosophila*. *Annu. Rev. Physiol.*, 72: 605 – 624.

Bartman CM, Oyama Y, Brodsky K, Khailova L, Walker L, Koeppen M, Eckle T, 2017. Intense light-elicited upregulation of miR-21 facilitates glycolysis and cardioprotection through *Per*2-dependent mechanisms. *PLoS ONE*, 12(4): e0176243.

Brown CJ, Ballabio A, Rupert JL, Lafreniere RG, Grompe M, Tonlorenzi R, Willard HF, 1991. A gene from the region of the human X inactivation centre is expressed exclusively from the inactive X chromosome. *Nature*, 349(6304): 38 – 44.

Bu Y, Yoshida A, Chitnis N, Altman BJ, Tameire F, Oran A, Gennaro V, Armeson KE, McMahon SB, Wertheim GB, Dang CV, Ruggero D, Koumenis C, Fuchs SY, Diehl JA, 2018. A PERK-miR-211 axis suppresses circadian regulators and protein synthesis to promote cancer cell survival. *Nat. Cell Biol.*, 20(1): 104 – 115.

Chen W, Liu Z, Li T, Zhang R, Xue Y, Zhong Y, Bai W, Zhou D, Zhao Z, 2014. Regulation of *Drosophila* circadian rhythms by miRNA let-7 is mediated by a regulatory cycle. *Nat. Commun.*, 5: 5549.

Chen X, Rosbash M, 2016. mir-276a strengthens *Drosophila* circadian rhythms by regulating timeless expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 113(21): E2965 – E2972.

Chen X, Rosbash M, 2017. MicroRNA-92a is a circadian modulator of neuronal excitability in *Drosophila*. *Nat. Commun.*, 8: 14707.

Cheng HM, Papp JW, Varlamova O, Dziema H, Russell B, Curfman JP, Nakazawa T, Shimizu K, Okamura H, Impey S, Obrietan K, 2007. microRNA modulation of circadian-clock period and entrainment. *Neuron*, 54(5): 813 – 829.

Coon SL, Munson PJ, Cherukuri PF, Sugden D, Rath MF, Møller M, Clokie SJ, Fu C, Olanich ME, Rangel Z, Werner T, NISC Coparative Sequencing Program, Mullikin JC, Klein DC, 2012. Circadian changes in long noncoding RNAs in the pineal gland. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109(33): 13319 – 13324.

Cui M, Zheng M, Sun B, Wang Y, Ye L, Zhang X, 2015. A long noncoding RNA perturbs the circadian rhythm of hepatoma cells to facilitate hepatocarcinogenesis. *Neoplasia*, 17(1): 79 – 88.

Cusumano P, Biscontin A, Sandrelli F, Mazzotta GM, Tregnago C, De Pittà C, Costa R, 2018. Modulation of miR-210 alters phasing of circadian locomotor activity and impairs projections of PDF clock neurons in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet.*, 14(7): e1007500.

Davis CJ, Bohnet SG, Meyerson JM, Krueger JM, 2007. Sleep loss changes microRNA levels in the brain: a possible mechanism for state-dependent translational regulation. *Neurosci. Lett.*, 422(1): 68 – 73.

Davis CJ, Clinton JM, Krueger JM, 2012. MicroRNA 138, let-7b, and 125a inhibitors differentially alter sleep and EEG delta-wave activity in rats. *J. Appl. Physiol.*, 113(11): 1756 – 1762.

Davis CJ, Clinton JM, Taishi P, Bohnet SG, Honn KA, Krueger JM, 2011. MicroRNA 132 alters sleep and varies with time in brain. *J. Appl. Physiol.*, 111(3): 665 – 672.

Dubruille R, Murad A, Rosbash M, Emery P, 2009. A constant light-genetic screen identifies KISMET as a regulator of circadian photoresponses. *PLoS Genet.*, 5(12): e1000787.

Fan Z, Zhao M, Joshi PD, Li P, Zhang Y, Guo W, Xu Y, Wang H, Zhao Z, Yan J, 2017. A class of circadian long non-coding RNAs mark enhancers modulating long-range circadian gene regulation. *Nucleic Acids Res.*, 45(10): 5720 – 5738.

Gao Q, Zhou L, Yang SY, Cao JM, 2016. A novel role of microRNA 17-5p in the modulation of circadian rhythm. *Sci. Rep.*, 6: 30070.

Garaulet DL, Sun K, Li W, Wen J, Panzarino AM, O′Neil JL, Hiesinger PR, Young MW, Lai EC, 2016. miR-124 regulates diverse aspects of rhythmic behavior in *Drosophila*. *J. Neurosci.*, 36(12): 3414 – 3421.

Gatfield D, Le Martelot G, Vejnar CE, Gerlach D, Schaad O, Fleury-Olela F, Ruskeepää AL, Oresic M, Esau CC, Zdobnov EM, Schibler U, 2009. Integration of microRNA miR-122 in hepatic circadian gene expression. *Genes Dev.*, 23(11): 1313 – 1326.

Goodwin PR, Meng A, Moore J, Hobin M, Fulga TA, Van Vactor D, Griffith LC, 2018. MicroRNAs regulate sleep and sleep homeostasis in *Drosophila*. *Cell Rep.*, 23(13): 3776 – 3786.

Jonas S, Izaurralde E, 2015. Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. *Nat. Rev. Genet.*, 16(7): 421 – 433.

Kadener S, Menet JS, Sugino K, Horwich MD, Weissbein U, Nawathean P, Vagin VV, Zamore PD, Nelson SB, Rosbash M, 2009. A role for microRNAs in the *Drosophila* circadian clock. *Genes Dev.*, 23(18): 2179 – 2191.

Kojima S, Gatfield D, Esau CC, Green CB, 2010. MicroRNA-122 modulates the rhythmic expression profile of the circadian deadenylase *Nocturnin* in mouse liver. *PLoS ONE*, 5(6): e11264.

Ledford H, Callaway E, 2017. Circadian clock scoop Nobel prize. *Nature*, 550(7674): 18.

Lee KH, Kim SH, Lee HR, Kim W, Kim DY, Shin JC, Yoo SH, Kim KT, 2013. MicroRNA-185 oscillation controls circadian amplitude of mouse Cryptochrome 1 via translational regulation. *Mol. Biol. Cell*, 24(14): 2248 – 2255.

Luo W, Sehgal A, 2012. Regulation of circadian behavioral output via a microRNA-JAK/STAT circuit. *Cell*, 148(4): 765 – 779.

Mendoza-Viveros L, Chiang CK, Ong JLK, Hegazi S, Cheng AH, Bouchard-Cannon P, Fana M, Lowden C, Zhang P, Bothorel B, Michniewicz MG, Magill ST, Holmes MM, Goodman RH, Simonneaux V, Figeys D, Cheng HM, 2017. miR-132/212 modulates seasonal adaptation and dendritic morphology of the central circadian clock. *Cell Rep.*, 19(3): 505 – 520.

Na YJ, Sung JH, Lee SC, Lee YJ, Choi YJ, Park WY, Shin HS, Kim JH, 2009. Comprehensive analysis of microRNA-mRNA co-expression in circadian rhythm. *Exp. Mol. Med.*, 41(9): 638 – 647.

Nagel R, Clijsters L, Agami R, 2009. The miRNA-192/194 cluster regulates the *Period* gene family and the circadian clock. *FEBS J.*, 276(19): 5447 – 5455.

Nian X, Chen W, Bai W, Zhao Z, Zhang Y, 2018. miR-263b controls circadian locomotor activity and the structural plasticity of small ventral lateral neurons by inhibition of *Beadex*. *bioRxiv*, doi: https://doi.org/10.1101/368043.

Oyama Y, Bartman CM, Gile J, Eckle T, 2017. Circadian microRNAs in cardioprotection. *Curr. Pharm. Des.*, 23(25): 3723 – 3730.

Partch CL, Green CB, Takahashi JS, 2014. Molecular architecture of the mammalian circadian clock. *Trends Cell Biol.*, 24(2): 90 – 99.

Pegoraro M, Tauber E, 2018. Photoperiod-dependent expression of microRNA in *Drosophila*. *bioRxiv*, doi: https://doi.org/10.1101/464180.

Quinn JJ, Chang HY, 2016. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function. *Nat. Rev. Genet.*, 17(1): 47 – 62.

Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, Squazzo SL, Xu X, Brugmann SA, Goodnough LH, Helms JA, Farnham PJ, Segal E, Chang HY, 2007. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell*, 129(7): 1311 – 1323.

Sarachana T, Zhou R, Chen G, Manji HK, Hu VW, 2010. Investigation of post-transcriptional gene regulatory networks associated with autism spectrum disorders by microRNA expression profiling of lymphoblastoid cell lines. *Genome Med.*, 2(4): 23.

Shende VR, Goldrick MM, Ramani S, Earnest DJ, 2011. Expression and rhythmic modulation of circulating microRNAs targeting the clock gene *Bmal*1 in mice. *PLoS ONE*, 6(7): e22586.

Shi L, Ko ML, Ko GY, 2009. Rhythmic expression of microRNA-26a regulates the L-type voltage-gated calcium channel α1C subunit in chicken cone photoreceptors. *J. Biol. Chem.*, 284(38): 25791 – 25803.

Smith SS, Dole NS, Franceschetti T, Hrdlicka HC, Delany AM, 2016. MicroRNA-433 Dampens glucocorticoid receptor signaling, impacting circadian rhythm and osteoblastic gene expression. *J. Biol. Chem.*, 291(41): 21717 – 21728.

Soshnev AA, Ishimoto H, McAllister BF, Li X, Wehling MD, Kitamoto T, Geyer PK, 2011. A conserved long nocoding RNA affects sleep in *Drosophila*. *Genetics*, 189(2): 455 – 468.

Swingler TE, Horne R, Meng Q, Clark IM, 2018. MicroRNA-455 is regulated in a circadian manner and targets a number of components of the circadian rhythm. *Osteoarthr. Cartilage*, 26(Suppl. 1): S164 – S165.

Takahashi JS, 2017. Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. *Nat. Rev. Genet.*, 18(3): 164 – 179.

The ENCODE Project Consortium, 2012. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*, 489(7414): 57 – 74.

Vodala S, Pescatore S, Rodriguez J, Buescher M, Chen YW, Weng R, Cohen SM, Rosbash M, 2012. The oscillating miRNA 959 – 964 cluster impacts *Drosophila* feeding time and other circadian outputs. *Cell Metab.*, 16(5): 601 – 612.

Wu S, Fesler A, Ju J, 2016. Implications of circadian rhythm regulation by microRNAs in colorectal cancer. *Cancer Transl. Med.*, 2(1): 1 – 6.

Xu S, Witmer PD, Lumayag S, Kovacs B, Valle D, 2007. MicroRNA (miRNA) transcriptome of mouse retina and identification of a sensory organ-specific miRNA cluster. *J. Biol. Chem.*, 282(34): 25053 – 25066.

Yang M, Lee JE, Padgett RW, Edery I, 2008. Circadian regulation of a limited set of conserved microRNAs in *Drosophila*. *BMC Genomics*, 9: 83.

Yoo SH, Kojima S, Shimomura K, Koike N, Buhr ED, Furukawa T, Ko CH, Gloston G, Ayoub C, Nohara K, Reyes BA, Tsuchiya Y, Yoo OJ, Yagita K, Lee C, Chen Z, Yamazaki S, Green CB, Takahashi JS, 2017. *Period*2 3′-UTR and microRNA-24 regulate circadian rhythms by repressing PERIOD2 protein accumulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 114(42): E8855 – E8864.

You S, Fulga TA, Van Vactor D, Jackson FR, 2018. Regulation of circadian behavior by astroglial microRNAs in *Drosophila*. *Genetics*, 208(3): 1195 – 1207.

Zhang Y, Lamba P, Guo P, Emery P, 2016. MiR-124 regulates the phase of *Drosophila* circadian locomotor behavior. *J. Neurosci.*, 36(6): 2007 – 2013.

Zhao X, Zhu X, Cheng S, Xie Y, Wang Z, Liu Y, Jiang Z, Xiao J, Guo H, Wang Y, 2014. MiR-29a/b/c regulate human circadian gene *hPER*1 expression by targeting its 3′UTR. *Acta Biochim. Biophys. Sin.*, 46(4): 313 – 317.

(责任编辑：赵利辉)